

ヒラメ種苗の体色変化と体成分組成におよぼす初期餌料の影響

白井 一茂 ・ 山田 敦

Effect of Primary Feed on Color Variation and Organismic Composition
of Japanese Flounder (*Paralichthys olivaceus*)

Kazushige USUI*, and Atsushi YAMADA**

Abstract

The effect of primary feed on color variation and organismic composition of Japanese flounder larva by eight different tests was investigated. Rotifer and Artemia enriched with DHA made fish grown effectively and there was few albinism and vertebral abnormality. While normal fish contained TAU abundantly, albinism fish contained PRO and TAU abundantly.

There were high rate of vertebral abnormality in cases of rotifer enriched with fat-soluble vitamins. And there were never detected ATP in all the cases of albinism, so the results suggested that ATP was related to albinism of primary seedling of Japanese flounder.

はしがき

ヒラメ人工種苗の生産過程において、飼育する環境や餌料の供給状態により、有限側の白化 (albinism) や、無限側の黒化 (ambicoloration) 等の体色異常個体の出現が認められている。

ヒラメが属するカレイ目魚類は、人工的に飼育されるようになった当初より、その体色異常の発生要因が解明されておらず、白化を中心とした体色異常出現防止に向けて様々な取組が行われている。遺伝的¹⁾あるいは飼育環境や餌料^{2,3)}、また初期の成長段階における、変態という過度の生体変化にみられる発育ステージでの栄養条件などであることが推定されてきた⁴⁾が、現実的には様々な要因が複雑に関与していると考えられ、今だ完全な白化に関する原因解明には到っていない。

白化の発生防止には、脂溶性であるビタミンAの投与が有効とされる報告⁵⁾もあるが、適正な投与量でないと脊椎骨の癒合を多発させる危険性が示唆されている⁶⁾。また、卵から孵化した後、神経の発達にDHAやEPAの高度不飽和脂肪酸が関与することも示唆されており、餌料の栄養強化等の有効性も明らかにされ⁷⁾、本県でも実行している。

しかし、現在においても、ヒラメの成長に伴う栄養要求や、生体代謝の過程がどの様に行われているのか、完

全には明らかにされてはいないのが現状である。

本県において、ヒラメの種苗生産による放流事業は、業界から強く熱望され、年間十数万尾の生産を行っている。しかし、このような体色異常魚は俗にパンダと呼ばれ、天然のヒラメと成分的にほとんど変わらないにもかかわらず、市場での評価が低い。特にその傾向は白化魚で顕著であり、天然個体と同等である正常個体の生産を確立されることにより、漁業者の収入増加に貢献できると思われる。

今回、同一日に産出された卵を用いて、同一飼育環境下、数種の調整した餌料で、平均体長30.0mmまで生育実験をしたヒラメ仔魚の、種苗評価と生体成分について、白化個体と正常個体に区別し分析したのでここに報告する。

材料と方法

飼育試験

試験には2000年1月17日に静岡県浜岡温水利用センターより搬入した卵を用いて、2月3日まで収容後44日目まで行った。飼育水槽には容量1m³の円形水槽(透明ポリカーボネイト製)8面を用いた。各槽に卵を約1万粒ずつになるように収容し、飼育海水には紫外線照射海水を用いて流水管理した。

また、初期において水温を上げ、ヒラメ仔魚の成長促進と、浮遊期の減耗低下を試みる方法と、前年度、飼育試験の際、種苗の成長が良かった飼育初期段階で飼育海水に真水を混入し、塩分濃度を下げる方法を用いて、生理的順応力の増進を行った。

孵化直後から仔魚にナンクロロプシス(*Nannochloropsis oculata*、以下Nanとする)を添加した。餌料として孵化1日目からはシオミズツボワムシ(*Brachionus plicatilis*、以下ワムシとする)、8日目からはアルテミアも附加し、16日目からは配合飼料を供与した。生物餌料の栄養強化剤には、Nanとマリングロス(日清サイエンス社製、以下MGとする)、及びデュファゾール(A、D₃、Eの脂溶性ビタミン可溶液、以下DFSとする)、配合飼料は飼料供与開始時よりProgression(SALT CREEK社製)を用いた。(表1)。

表1 ナンクロロプシス(Nan)、ワムシ(B)、アルテミア(A) 飼育試験中の飼料の添加種と量

(単位 Nan: 万cell/ml, B: 個体/ml, A: g, 配合: g)

配合飼料の添加種類と供給量		(単位 Nan: 万cell/ml, B: 個体/ml, A: g, 配合: g)														
日数	0日	1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	9日	10日	11日	12日	13日	14日	15日
Nan	50	100	100	150	150	100	100	100	—	5	10	—	10	10	10	10
B	—	5	10	—	10	10	10	10	—	—	—	—	—	—	—	—
A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
配合	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
日数	16日	17日	18日	19日	20日	21日	22日	23日	24日	25日	26日	27日	28日	29日	30日	31日
Nan	100	100	100	100	100	100	100	50	150	100	100	100	100	100	100	100
B	10	10	10	10	10	10	10	—	100	100	100	100	100	100	100	100
A	24	60	100	100	150	150	200	280	50	60	190	190	200	230	250	280
配合	10	10	10	20	20	20	30	150	10	10	10	10	10	10	10	10
日数	31日	32日	33日	34日	35日	36日	37日	38日	39日	40日	41日	42日	43日	44日		
Nan	100	50	—	—	—	—	—	—	280	340	500	500	550	660	680	700
B	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
配合	280	340	500	500	550	660	680	700	400	440	1160	1000	500	—	—	—

種苗評価

試験終了時に、1試験区につき約300尾について、全長と湿重量を測定し、外部形態と有限側体色を目視観察により評価した。体色評価の基準としては、完全な正常のヒラメ(◎)、明確な白化部位は出現していないが、正常ヒラメと比べ明らかに体色が薄いものや、ヒラメ仔魚特有の白色斑点により判定がつかず、ほぼ正常と判断したヒラメ(○)、体幹部に一部でも白化が出現しているヒラメ(×)とし、3段階とした。

分析方法

平均体長が30mmを越えた43日目の午前中まで餌料を与え、44日目に取り上げ-50℃に凍結保存し、分析毎毎に流水により急速解凍し実験試料とした。分析に用いた部位は、頭部と内臓、および骨をのぞいた筋肉部分で、

各試験区ごとに、正常魚と明確な白化魚について、それぞれ1検体につき5匹のヒラメを混合し、分析試料として用いた。

核酸関連化合物及び遊離アミノ酸分析試料には、10%過塩素酸による抽出を行い、これをKOHによりpH6.8に調整したものを核酸関連物質分析試料とした。遊離アミノ酸分析には、上記過塩素酸抽出液をpH2.2のクエン酸リチウム緩衝液で倍に希釈し分析に用いた。

脂肪酸分析試料は、Bligh-Dyerの方法により抽出した全脂質を、0.5Nアルコール性KOHでケン化後、BF₃-メタノールでメチル化して用いた。

核酸関連化合物の測定はHPLC(島津製:LC-10AT)によりおこなった。分析条件は下記の通りであった。カラム:Asahipak GS-320HQ、200mMリン酸ナトリウム緩衝液(pH2.70)の流量1.0ml/min、温度30℃、検出UV-260nm。

遊離アミノ酸の測定もまた、のHPLC(島津製:LC-10AD)によりおこなった。カラムにはShim-pack ISC-07/S1504Liを使用し、OPAを用いる蛍光検出による常法で行った。

脂肪酸組成の分析には、カラムSPELLOWAX-10石英キャピラリー(30m×0.25mmI.D.,膜厚0.25μm,SPELLOWAX社製);カラム温度,195℃;キャリアガス,He;スプリット比,1:60の条件でGLC(島津製:GC-17A)により分析を行った。

結果

飼育環境

卵の搬入時の浮上卵率は90.3%で、孵化率は92.5%であった。飼育海水の温度変化を図1に示す。仔魚孵化時には18℃であった水温を、徐々に昇温し浮遊期間になった5日目では22℃に調整した。18日目までは22℃に設定して加温を行い、19日目以降はヒーターを取り除き、徐々に降温させて44日目の取り上げ時には17.5℃であった。

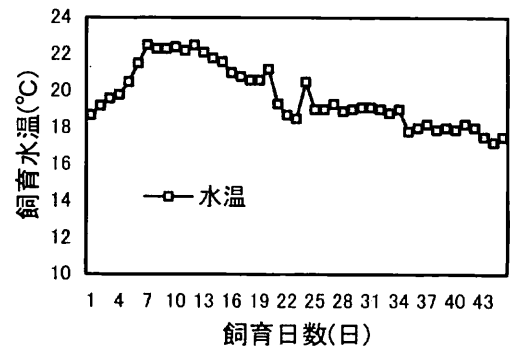


図1 飼育海水の温度変化

換水率は20~40%へと徐々に増加させた。また、注水する海水に対し、仔魚孵化後1日目から15日目まで真水を20%添加し、塩分濃度を下げた。

種苗評価

全区の平均で7日目で6mm、14日目で10.6mm、21日目で13.6mm、28日目で18.0mm、35日目で26.6mmと順調に推移し、各区とも疾病発生による大量へい死等は認められなかった。44日目には平均体長も30.0mmに達した。表2に終了時の取り上げ概要を示す。取り上げた総尾数は試験区ごとで若干異なり、1区の11401尾と8区の7750尾との間には、約1.5倍の差が見られた。取り上げ時、各試験区ごとの育成状況を把握するために、ステンレス製の5×5mm角のかご網により、体長24mm以下(以下小型個体とする。)の個体と、それ以上の個体に選別した。小型魚占有率が高かったのは1区と6区であった。また、総取り上げ尾数の少なかった8区および、2区と7区で小型魚占有率が低かった。また、飼育密度を小型魚を除いて、着底面積で換算したところ、2区が一番高く、6703尾/m²であった。

表2 飼育試験区の飼料配合と飼育環境

(単位 取上総数:尾、選別後:尾、密度:尾/m²、小型魚取上率:%)

試験区	飼料		取上総数	選別後	密度	小型魚取上率
1区	B/Nan	A/MG	11401	7619	5861	33.2
2区	B/MG	A/MG	9827	8714	6703	11.3
3区	B/Nan+V	A/MG	9734	7514	5782	22.8
4区	B/MG+V	A/MG	9615	7057	5428	26.6
5区	B/Nan	A/MG+V	8160	6510	5008	20.2
6区	B/MG	A/MG+V	10299	7457	5736	27.6
7区	B/Nan+V	A/MG+V	8559	7442	5725	13.1
8区	B/MG+V	A/MG+V	7750	6793	5225	12.3

B:ワムシ、A:アルテミア、Nan:ナンクロロプシス、MG:マリングロス(強化剤)、V:脂溶性ビタミン可溶液

各試験区の小型個体を除いた稚魚の取上げ時の目視観察結果と平均全長、質重量を表3に示す。白化個体の出現率は2区、6区、1区の順に低く、最も高い3区でも34%に留まり、有眼側の体色異常は総じて良好であった。形態異常出現率も2区、6区、1区の順で低かった。また、3区、4区、7区、8区は形態異常出現率が非常に高い値となった。この形態異常は尾鰭が屈曲して矮小化するもので、尾鰭が殆ど形成されないも見られた。平均体長では1区と5区が34mmを越え、2区、6区、8区、7区、3区、4区の順番であった。平均湿重量では4区が比較的低い値を示したが、1尾当たり0.35g前後の値で大きな差は見られなかった。

表3 飼育種苗の体色・形態評価と平均体長、湿重量

試験区	種苗評価・(形態異常)			体色・形態異常(%)	平均体長(mm)	平均湿重量(g/匹)
	◎	○	×			
1区	198(2)	89(1)	43(2)	13.03(1.51)	34.40	0.33
2区	181(4)	96(0)	30(1)	9.77(1.62)	33.38	0.36
3区	87(80)	103(95)	98(84)	34.03(89.93)	29.26	0.33
4区	137(134)	92(92)	67(67)	22.64(98.99)	28.52	0.29
5区	138(1)	129(0)	65(0)	19.58(0.30)	34.04	0.38
6区	196(0)	101(0)	35(0)	10.54(0.00)	32.46	0.36
7区	82(70)	127(117)	92(88)	30.56(91.36)	31.35	0.37
8区	113(111)	95(93)	104(99)	33.33(97.12)	31.89	0.38

◎:体色が完全な正常個体
○:白化が確認しにくいほぼ正常個体
×:白化部位が見られた白化個体

核酸関連物質

各試験区ごとの正常、および白化個体の核酸関連物質含量を表4、5に示す。

表4 各飼料添加試験区ごとの正常個体の核酸関連物質含量

(単位:mg/100g)

試験区	1区	2区	3区	4区	5区	6区	7区	8区
ATP	61.7	119.9	70.6	100.9	107.3	117.3	52.7	75.5
ADP	109.0	122.0	74.5	80.3	83.3	89.7	104.6	100.2
AMP	41.6	44.4	36.6	59.2	41.0	44.0	41.1	63.9
IMP	549.1	804.3	860.7	1205.7	863.5	819.8	781.0	1307.3
Hx	224.1	221.9	181.2	164.9	139.8	132.0	149.2	198.3
HxR	258.7	151.2	107.2	174.6	153.4	128.9	180.2	197.2
合計	1244.3	1463.6	1330.9	1785.7	1388.3	1331.6	1308.8	1942.4

表5 各飼料添加試験区ごとの白化個体の核酸関連物質含量

(単位:mg/100g)

試験区	1区	2区	3区	4区	5区	6区	7区	8区
ATP	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
ADP	123.3	132.7	124.1	98.3	87.7	112.9	112.8	78.4
AMP	53.1	78.4	41.5	72.8	60.4	55.4	57.8	47.7
IMP	625.4	566.5	867.8	775.9	753.7	810.3	657.3	558.5
Hx	257.3	269.2	249.0	234.1	353.0	164.6	274.6	147.3
HxR	313.5	136.7	273.7	264.5	253.7	144.2	288.2	149.3
合計	1372.6	1183.5	1556.1	1445.6	1508.4	1287.4	1390.7	981.1

正常個体の試験区では、2区と6区のアデノシン-3-リン酸(ATP)含量が多く、4区と8区がイノシン酸(IMP)の含量が多いのが特徴であった。また、1区のプロキサンチン(Hx)が極めて多く、かつIMPが少なかった。

白化個体の試験区では、すべての試験区において、ATPが検出されなかった。また、2区と6区のHx含量が少なく、1区が多いのが特徴であった。

試験区によるATP、アデノシン-2-リン酸(ADP)、アデニル酸(AMP)含有量の多さは正常個体で、2区、6区、1区、5区、7区、3区、4区、8区の順番であった。また、白化個体では2区、6区、1区、8区、7区、4区、3区、5区の順番であり、上位3試験区は同じであった。

正常個体と白化個体での平均値を図2に示す。白化個体はATPが検出されず、イノシン(HxR)やHxが多く検出され、正常個体の含有濃度に比べ、HxRが1.35倍、Hxが1.38倍であった。

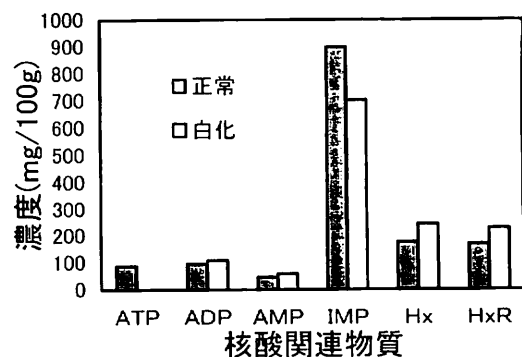


図2 正常、白化個体の核酸関連物質含量

また、高エネルギー源であるATP、ADP、AMP含量は、白化個体では総量の12.82%、正常個体では15.85%であった。また、核酸関連物質の総量は正常個体の方が白化した個体よりも1.1倍と僅かに多かった。

遊離アミノ酸

各試験区ごとの正常、および白化個体の遊離アミノ酸組成を表6、7に示す。正常個体の試験区による差は余

表6 各餌料添加試験区ごとの正常個体の遊離アミノ酸含量

試験区	(単位:mg/100g)							
	1区	2区	3区	4区	5区	6区	7区	8区
TAU	438.8	521.0	444.9	465.6	315.1	507.0	412.2	421.0
ASP	13.3	8.3	11.6	11.2	9.4	12.8	9.8	27.4
THR	62.6	41.7	4.8	66.0	38.2	64.1	4.8	45.0
SER	26.0	21.4	48.7	21.3	16.3	29.7	41.7	18.0
GLU	15.6	11.6	13.5	18.5	11.4	18.0	38.7	31.6
PRO	44.2	27.6	40.3	61.3	32.1	20.8	29.6	47.0
GLY	114.6	68.0	97.4	90.7	63.8	73.9	69.8	112.0
ALA	9.7	6.7	8.4	7.2	6.0	7.9	7.4	20.5
VAL	7.0	4.6	5.7	7.4	2.6	5.6	5.3	12.1
MET	16.0	27.3	16.8	13.7	19.0	14.3	23.7	22.0
CYS	10.0	23.7	8.6	11.8	4.0	8.1	8.3	14.8
ILE	19.3	2.3	14.9	22.9	9.6	15.0	13.6	16.0
LEU	2.8	4.4	2.7	3.5	2.8	4.1	2.6	3.5
TYR	8.7	11.0	7.0	7.3	8.4	14.9	6.3	8.9
PHE	13.4	11.6	11.6	10.9	8.8	14.6	11.1	12.9
HIS	101.7	73.2	107.2	107.4	69.3	75.0	79.7	102.0
LYS	38.3	22.6	26.5	33.4	17.4	33.9	28.5	34.0
ARG	8.6	5.0	4.0	11.4	20.5	11.2	8.5	14.0
合計	950.5	891.9	874.4	971.7	654.6	930.9	801.8	962.7

表7 各餌料添加試験区ごとの白化個体の遊離アミノ酸含量

試験区	(単位:mg/100g)							
	1区	2区	3区	4区	5区	6区	7区	8区
TAU	462.0	342.0	429.7	337.8	495.0	195.1	312.7	125.2
ASP	28.1	16.4	23.4	21.5	26.4	9.2	19.8	3.4
THR	74.6	53.7	73.5	52.5	105.9	47.0	13.8	16.9
SER	68.7	27.3	58.7	45.5	75.1	15.0	3.0	6.7
GLU	48.6	29.8	44.0	27.4	56.4	31.0	10.0	3.6
PRO	960.4	602.6	806.0	680.5	894.7	524.0	538.2	324.0
GLY	0.0	14.3	18.4	1.3	32.4	0.0	0.0	28.2
ALA	28.7	1.7	2.0	0.0	2.4	0.0	0.0	2.4
VAL	10.3	8.3	8.8	7.4	14.7	0.0	0.0	0.0
MET	38.3	28.0	38.2	0.0	36.7	0.0	0.0	0.0
CYS	11.8	9.6	10.5	4.0	16.1	0.0	0.0	0.0
ILE	16.6	10.3	13.6	4.8	29.1	3.4	7.1	5.7
LEU	2.7	2.3	0.0	0.0	3.8	0.0	0.0	0.0
TYR	6.3	4.8	5.0	3.4	8.8	0.0	0.0	0.0
PHE	12.1	8.2	10.8	7.8	15.0	0.0	3.4	3.9
HIS	118.1	92.5	117.7	86.2	168.0	77.0	77.4	84.0
LYS	40.2	29.2	30.9	25.3	66.2	13.4	23.0	8.7
ARG	4.2	25.8	24.5	4.6	4.3	4.1	3.4	4.0
合計	1931.8	1306.7	1715.7	1310.1	2050.9	919.3	1011.7	616.6

り見られなかったが、3区と7区でスレオニン(THR)の含量が少なく、セリン(SER)の量が比較的多かった。また、試験区5は全体的に低い値であった。

白化個体の4区、5区、6区、7区、8区で検出されないアミノ酸が、GLY、ALA、バリン(VAL)、メチオニン(MET)、ロイシン(LEU)、TYR、フェニルアラニン(PHE)であった。また、1区と5区では、遊離アミノ酸総量が白化個体平均値より40%も多く、特に1区ではALAが、5区ではGLYが多いのが特徴であった。また、試験区8は総量が平均の44%と極めて低い値であった。

飼育区分による総遊離アミノ酸含量の多さは、正常個体区で4区、8区、6区、1区、2区、3区、7区、5区の順番であった。また、白化個体では5区、1区、3区、4区、2区、7区、6区、8区の順番であった。

飼育区分によるTAU含量の多さは、正常個体で2区、6区、4区、3区、1区、8区、7区、5区の順番であった。白化個体では5区、1区、3区、2区、4区、7区、6区、8区の順番であった。

正常個体と白化個体の遊離アミノ酸平均値を図-3に示す。正常個体の主組成として、タウリン(TAU)が総量の約半分を占めていた。次にグリシン(GLY)、ヒスチジン(HIS)が比較的多かったものの若干量であった。白化個体は、正常個体とほとんど同じくTAUが主組成であるが、その他成分としてプロリン(PRO)を極めて多く含有していた。

TAUとPRO含有率を表-8に示す。TAU含量は白化個体より正常個体の方が平均で1.3倍多く含有していた。また、総遊離アミノ酸含量におけるTAUの総量は白化個体は平均で24.14%、正常個体は50.09%であった。遊

表8 各餌料添加試験区ごとの正常個体、白化個体の総アミノ酸量に対するタウリン及びプロリン含量(%)

試験区	(単位:%)							
	1区	2区	3区	4区	5区	6区	7区	8区
TAU : 白化	23.91	26.18	25.04	25.78	24.13	21.23	30.91	20.31
正常	46.16	58.41	50.88	47.91	48.14	54.46	51.41	43.73
PRO : 正常	4.65	3.70	4.60	6.31	4.90	2.12	3.69	4.67
白化	49.72	46.11	46.98	51.94	43.62	57.00	53.20	52.55

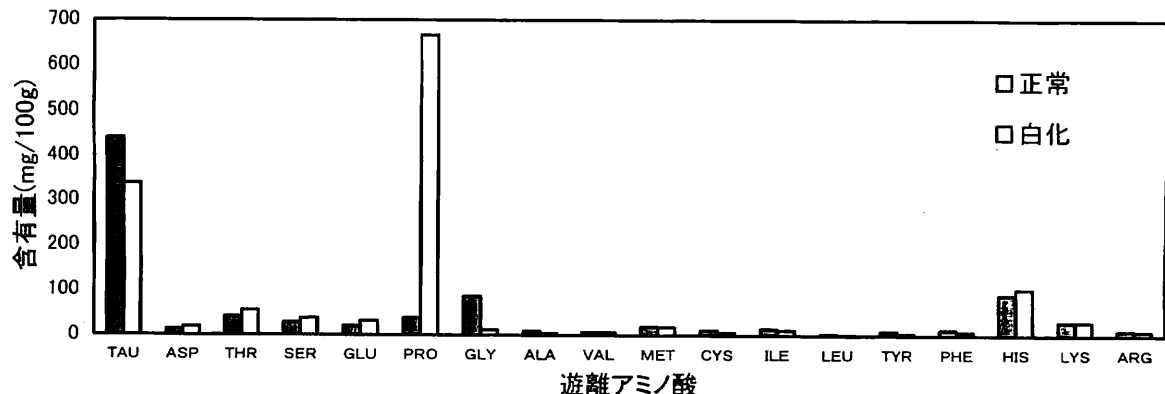


図3 正常、白化個体の遊離アミノ酸含量

離アミノ酸総量としては白化個体の方が平均で1.8倍と多く、特にPROが正常個体に比べ平均で約16倍も含有し、平均で総アミノ酸含有量の47.66%であった。白化個体のアミノ酸総量からPRO含量を差引くと、正常個体とほぼ同様な成分組成であった。両者とも似た組成と含量であるが、正常個体はTAUについてGLYが多く、白化個体はPROが主組成で、ついでTAUが多くなっているのが特徴であった。

脂肪酸組成

各試験区ごとに正常ヒラメ、白化ヒラメの粗脂肪含量を表9、10に示す。脂肪酸組成は正常個体も白化個体も

表9 各餌料添加試験区ごとの正常個体の脂肪酸組成

試験区	(単位:%)							
	1区	2区	3区	4区	5区	6区	7区	8区
C18:2n6c	2.32	1.85	2.70	ne.	2.50	3.16	ne.	ne.
C18:3n6	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.
C18:3n3	1.90	10.42	6.89	9.72	11.45	9.24	14.29	11.81
C21:1	14.79	9.34	11.92	6.44	11.30	13.43	ne.	5.72
C20:2	ne.	ne.	2.03	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.
C22:0	ne.	ne.	3.18	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.
C20:3n6	5.61	4.99	4.30	5.46	4.85	5.07	4.88	4.81
C22:1n9	11.53	11.94	8.81	11.81	12.73	12.00	13.40	12.14
C20:3n3	ne.	ne.	0.46	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.
C20:4n6	ne.	ne.	3.81	ne.	ne.	1.58	ne.	ne.
C23:0	4.34	2.06	5.61	1.98	ne.	3.27	ne.	ne.
C22:2	8.75	8.59	7.44	8.77	8.37	8.41	6.96	8.11
C24:0	ne.	ne.	2.78	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.
C20:5n3	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.
C24:1	1.60	0.44	1.87	0.59	ne.	1.60	ne.	ne.
C22:6n3	49.15	50.38	36.47	55.23	48.81	42.24	60.47	57.41

表10 各餌料添加試験区ごとの白化個体の脂肪酸組成

試験区	(単位:%)							
	1区	2区	3区	4区	5区	6区	7区	8区
C18:2n6t	0.27	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.
C18:2n6c	2.86	1.79	3.74	2.60	3.84	3.60	2.35	2.91
C20:0	1.68	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.
C18:3n6	7.39	ne.	1.17	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.
C20:1	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.
C18:3n3	6.20	5.66	8.38	9.28	9.78	10.91	12.02	10.70
C21:1	13.69	38.90	0.96	12.89	13.97	10.91	7.19	11.25
C20:2	2.88	1.08	3.13	1.06	1.79	ne.	ne.	ne.
C22:0	2.72	ne.	2.11	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.
C20:3n6	2.68	2.91	4.58	5.09	5.79	6.43	5.96	6.40
C22:1n9	8.89	8.17	11.86	12.94	11.76	12.28	12.80	12.78
C20:3n3	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.
C20:4n6	3.03	1.88	4.10	1.33	4.50	ne.	ne.	ne.
C23:0	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	2.93	ne.	2.95
C22:2	7.17	5.60	8.76	8.79	7.91	7.55	7.47	7.80
C24:0	7.12	4.06	9.57	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.
C20:5n3	0.50	1.56	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.	ne.
C24:1	2.00	1.05	2.61	1.51	1.85	1.37	ne.	1.21
C22:6n3	30.91	27.35	39.02	44.50	38.81	44.01	52.21	44.01

同様なパターンを示していた。正常個体ではドコサヘキサエン酸(DHA)の比率が高く、平均で50%であった。また、C22:1n9やC21:1が多く検出された。白化個体では、DHAが平均で40%の主組成であり、正常個体と同様にC22:1n9やC21:1が多く検出された。

考 察

白化率の低さでは、2区と6区が良かった。しかし、小型魚占有率では、6区が比較的の高い値になったことと考えると、総合的には2区が最も成績が良いと思われる。

た。

一方、ワムシにDFSを添加した3区、4区、7区、8区すべてにおいて、脊椎の形態異常が多発したところから、今回の飼育方法では、初期餌料であるワムシには脂溶性ビタミン可溶液の添加を制限、あるいは用いない方が良いと思われた。このことについては、三木らの報告にもあり、過剰なビタミン類の供与は、尾柄部への異常を招くことを指摘している⁶⁾。

核酸関連化合物は生体内でエネルギー源として利用されているが、白化個体はすべての試験区において、ATPが検出されず、著者が東京湾での体色異常の、白シャコを分析した際も、ATPが検出されなかった特徴と良く類似する⁸⁾。白化個体には、エネルギーとしてATPを蓄積できないのか、あるいは速やかに消費されていくのか明らかではないが、ヒラメ種苗生産時の初期段階における白化出現状況の判断手段として、健苗性の指標としてATPが利用できると思われた。

含硫アミノ酸から発してTAUは合成されるが、魚類において餌料中に添加した場合、体内へ直接吸収されることが知られている⁹⁾。ヒラメ種苗にTAU添加した餌料を与えると、優れた成長を示し、摂餌の機敏性が向上し、天然魚と類似することや、人工種苗に生きているアミを附加することにより、体成分の遊離アミノ酸組成が変化し、天然の種苗のようになるという報告もある^{10,11)}。魚種が異なるが、ウナギやグッピーにおいてもTAUを添加した餌料で育成すると、体内のTAUが増加することが知られている¹²⁾。更にTAUの生理機能として、水産無脊椎動物が塩分濃度の異なった環境に適応する際、体内のTAU含有量変化が見られることから、浸透圧の調整作用が明らかになっている¹³⁾。魚類においてもウナギやカレイの一種 (*Plactichthys flesus*) では、外開の塩分濃度の変化に伴い、心筋細胞のTAU濃度の増減が測定され、浸透圧の調節に寄与していると考えられている¹⁴⁾。

TAUの生理機能として、神経系における作用¹⁵⁾ や、生体膜に機能障害や形態異常が生じたとき、回復安定化が知られている¹⁶⁾。ヒラメの白化については、遺伝的要因であるメラニン生合成能力のないアルビノではないことから¹⁷⁾、体表における体色出現機構に関わっている可能性も考えられる。すなわち、TAUを必要とする時期に、必要量のTAUを餌料と共に添加を行う。あるいは、初期段階で塩分濃度を変化させ、浸透圧の調整機能を高め、体内のTAU濃度を人為的に増減させることにより、白化の発生を低減できる可能性があると思われる。

さらに、すべての試験区において白化個体ではPROが多かったが、PROの生理機構として、表皮のコラーゲンに生合成されることが知られている¹⁸⁾。ニジマスにおいてはPRO添加と共に、L-アスコルビン酸 (AsA) が乏しいとコラーゲン合成の阻害が認められていることから、白化個体でも同様にAsAも含めたビタミン類の欠乏も示唆された。PRO含有量の多さの原因としては、コラーゲン生合成の阻害によって、PROが蓄積した場合。または、コラーゲンの変性により、PROが増加し

た場合であるが、後者の場合、本来コラーゲンはコラーゲナーゼ以外では加水分解さず、安定化に寄与するヒドロキシプロリン (OH-PRO) 含量が極めて低くなる。白化個体の魚肉中の遊離アミノ酸分析においても、実際に確認できるほどの検出量に足らず、変性についても考える必要がある。

ヒラメの目が移動する時期 (E stage) において¹⁾、DHAが不足すると、網膜中の暗視能力を司る桿体の光感受性物質であるロドプシンが生成されないことが知られている。そのことは網膜機能開始が遅れ、網膜からの情報伝達が中枢器官に届かないことによって、内分泌器官からのホルモン分泌が不足し、白化したヒラメが出現すると考えられている⁷⁾。また、白化したヒラメは、目や脳においてリン脂質、DHA含量がきわめて低いこと²⁾

より、現在の生産現場では、栄養強化としてDHA、リン脂質、ビタミンAの添加を行っている。しかし、DHAやEPAなど、単体の成分で作用していると考ええるよりは、生理活性としてTAUやビタミン類が合成あるいは結合した形で作用があると考ええる。事実、生体膜の安定化には、脂質のうちホスファジルコリン(PC)などとTAUが良く結合し安定することも知られている³⁾。

白化個体にはエネルギー物質であるATPの蓄積が見られず、表皮の形成に必要なPROが多量遊離していることから、変態時期の発育ステージごとに必須な栄養素と必要量があると考ええる。

今回の飼育試験で最も良好と判断された、2区と6区がATPを比較的多く有していること。および白化個体にはPROが多かったことから、今後、生化学的分析による健苗育成技術の開発や、健苗性の指標化に向けた様々な展開が期待される。

脂肪酸組成は、成魚の値とはかなり異なり、飽和酸、モノエン酸やジエン酸が高い値を示したり、EPAが殆ど検出されていなかった。また、種苗が成長初期であったことと、用いた検体も5匹と少なく、得られた脂肪もわずかに0.2%程であり、極めて微量であったため、前処理操作中或いは分析時において誤差等が生じたと思われることから、今後は用いる試料を多くすることや、抽出や前処理等の検討が必要と考える。

今後はヒラメの変態Stage毎に、必須な栄養素の検索や、必要量の検討。およびTAUやOH-PRO等を調製した新たな餌料での飼育試験で、白化ならび黒化等の体色異常、脊椎異常発生率の低減を目的としたモデル試験を行うことが課題と思われる。

要 約

初期飼料について8種類の試験区を用意し、ヒラメ仔魚の生育試験を行った。ワムシ及びアルテミアに強化剤としてマリングロスのみ添加した試験区が、成長がよく白化や、脊椎異常が少なかった。また、正常個体はタウリン含量が多く、白化個体はプロリン、タウリンが多いのが特徴であった。

ワムシに脂溶性ビタミン可溶液を添加したすべての試

験区で、脊椎の形態異常率が高いという特徴がみられた。

白化個体の体成分はすべての試験区でATPが検出できなかったことから、初期の健苗性に対する指標として、ATPが利用できると思われた。

参 考 文 献

- 1) 高橋庸一 (1992) : ヒラメの種苗生産における体色異常個体の出現と防除体色異常防除試験結果報告, 日本栽培漁業協会特別研究報告,3,1-58.
- 2) T.Seikai (1985) : Influence of Feeding Periods of Brazilian Artemia during Larval Development of Hatchery-reared Flounder *paralichthys olivaceus* on the Appearance of Albinism, Nippon Suisan Gakkaishi, 51, 521-527.
- 3) T.Seikai, T.Watanabe, and M.Shimozaki (1987) : Influence of Three Geographically Different Strains of Artemia Nauplii on Occurrence of Albinism in Hatchery-reared Flounder *paralichthys olivaceus*, Nippon Suisan Gakkaishi, 53, 195-200.
- 4) T. Seikai, M. Shimozaki, and T. Watanabe (1987) : Estimation of Larval Stage Determining the Appearance of Albinism in Hatchery-reared Juvenile Flounder Nippon Suisan Gakkaishi, 53, 1107-1114.
- 5) 竹内俊郎 (1997) : ヒラメの生物学と資源培養、健苗育成と栄養要求、96-106、水産学シリーズ112、恒星社恒星閣。
- 6) 三木教立・谷口朝宏・浜川秀夫・山田幸夫・桜井則広 (1990) : ビタミンA投与ワムシ給餌によるヒラメ白化防除。水産増殖,38,147-155.
- 7) A. Kanazawa (1993): J. World Aquacult. Soc., 24,162-166.
- 8) 臼井一茂、石井洋、小川砂郎 (2000) : 東京湾産白シャコの遊離アミノ酸、核酸関連化合物、脂肪酸組成について、神奈川県水産総合研究所研究報告,5,45-47.
- 9) M.Sakaguchi, M.Murata, T.Daikoku and S.Arai (1988) : Effects of dietary taurine on tissue Taurine and free amino acid levels of the chum salmon, *Oncorhynchus keta*, reared in freshwater and seawater environments. Comp. Biochem. Physiol., 98A, 437-442.
- 10) 中添純一・横山雅仁・良永知義・宇田川美穂・鈴木満平・中野広・吉田晋平・浜田文彦・高見秀輝 (1994) : 酵素：異体類の代謝の変化に関する研究、平成5年度健苗育成技術開発研究成果の概要、水産庁研究課、128-138.
- 11) T.Seikai, T.Takeuchi, and G.S.Park (1997) : Fisheries Sci., 63, in press.
- 12) M.Sakaguchi, M.Murata, T.Daikoku and S.Arai : Effects of dietary taurine on whole body and taurine levels of guppy and eel. Nippon suisan

gakkaiishi

- 13) 佐藤守・近藤隆雄・吉中禮二・池田静徳(1981) : ニジマスにおけるコラーゲン生合成に及ぼす飼料アスコルビン酸レベルの影響、Bulletin of Japanese Scientific Fisheries, 48(4), 553-556.
- 14) T.Vislie(1983) : Cell volume regulation in fish heart ventricles with special reference to taurine. Comp. Biochem. Physiol., 76A,507-514.
- 15) R. J. HUXTABLE (1986) : Taurine and the Oxidative Metabolism of Cysteine.In" Biochemistry of Sulfur" (R. J. HUXTABLE ed.), Plenum press, New York, pp. 121-197.
- 16) C. E. WRIGHT, J. A. ALLEN, H. H. TALLAN and Y. Y. LIN (1986) : Taurine : biological update. Ann. Rev. Biochem .,55, 427-453.
- 17) 竹内拓司(1982) : マウス毛色遺伝子の働きと細胞間相互作用. 色素細胞—この特異な集団(及川淳, 井出宏之編), 講談社. 99-124.
- 18) J.B.Lombardini,et al.(1992) : "Taurin-Nutritional Value and Mechanisms of Action" Plenum Press,New York.
- 19) 沖山宗雄(1967) : ヒラメの初期生活史に関する研究 I .後期仔魚の形態,日本研報,17,1-12.
- 20) A.Estevez and A.Kanazawa(1996) : Fatty Acid Composition of Neural Tissues of Normally Pigmented and Unpigmented Juveniles of Japanese Flounder Using Rotifer and Artemia Enriched in n-3 HUFA,Fisheries Sci.,62,88-93.
- 21) R.J.Huxtable(1992) : Physiological actions of taurine.Physiol.Rev.,72,101-163.